

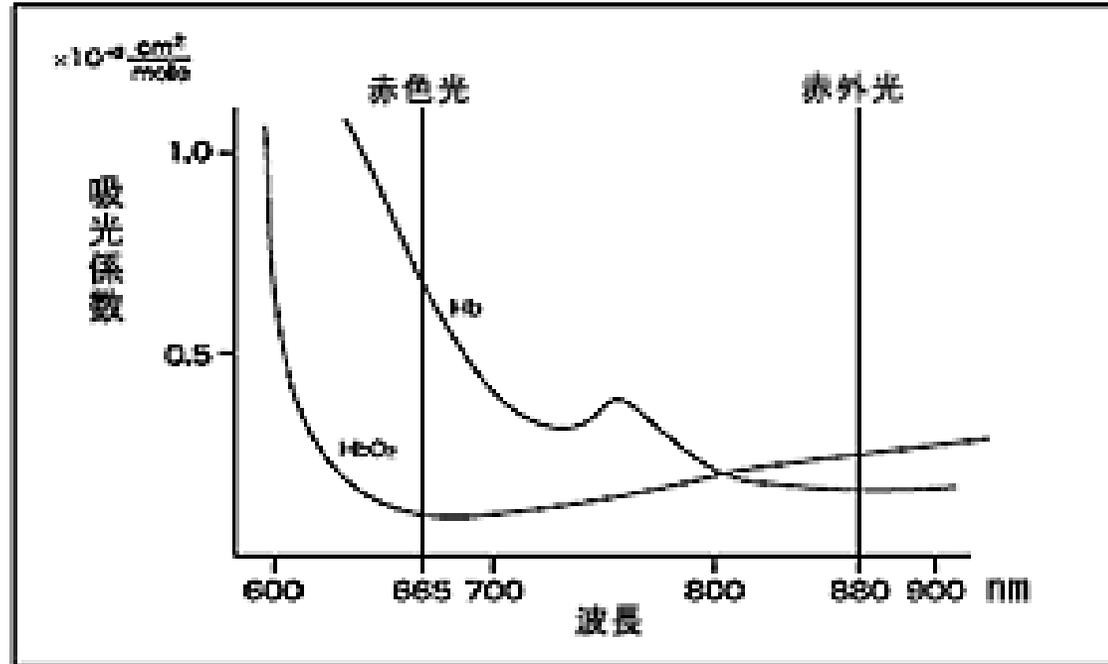
# 物理化学概論

## 分子の対称性と赤外&ラマン分光法(1)

九州工業大学 竹中繁織

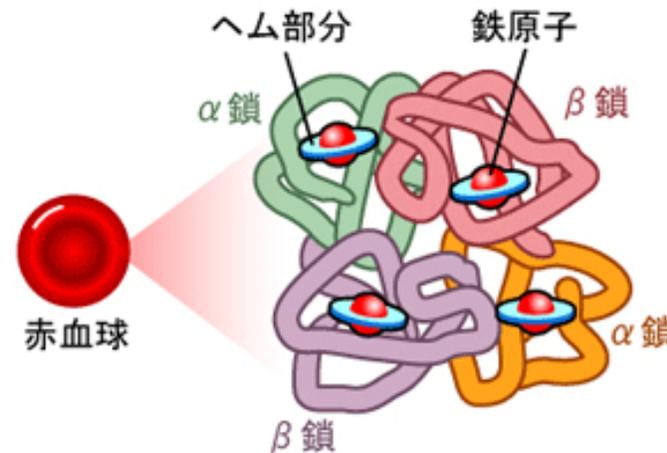
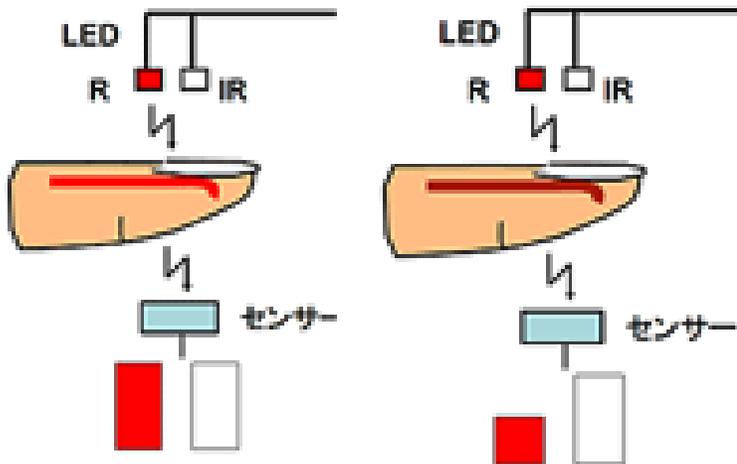
# 血液中の酸素濃度の検出: 動脈血の酸素濃度

赤外線を用いて検出



酸素と結びついたヘモグロビン(HbO<sub>2</sub>)と、酸素を離れたヘモグロビン(Hb)において、どの光を多く吸収するかを示した吸光度曲線

赤外線を用いて検出

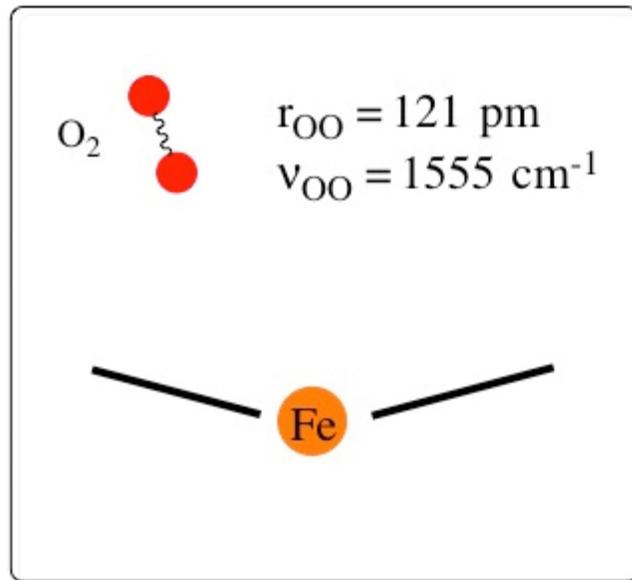


酸素と結びついたヘモグロビン(HbO<sub>2</sub>)と、酸素を離れたヘモグロビン(Hb)において、どの光を多く吸収するかを示した吸光度曲線と呼ばれるものです。色は横軸の波長で表わされます。2本のグラフはHbO<sub>2</sub>とHbがどの波長をよく吸収し、どの波長をあまり吸収しないかを表わしています。線が下に行くほど、その波長を吸収しない(良く通す)ことを意味します。

# 振動スペクトルで捉えた空気中の酸素分子とヘモグロビンに結合した酸素分子

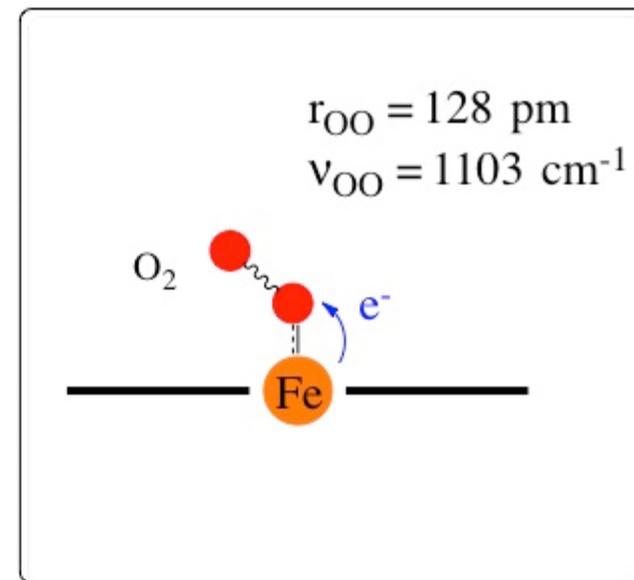
空気中の酸素分子

Free oxygen



ヘモグロビンに結合した酸素分子

Fe-bound oxygen



(A) 空気中の気体酸素であり、O-O 結合距離は121 pmである。(B) ヘモグロビンの鉄に結合した酸素であり、O-O 結合距離は128 pmとなり、気体に比べて7 pmだけ長い。これは酸素分子の状態が両者で異なることを意味する。

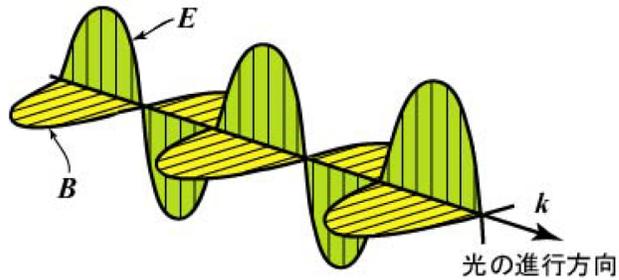
# 光とは？

光については昔から多くの議論がなされてきた...

## 波動説

反射・屈折・回折・干渉

→ 波の一般的な性質



直交する電場(E)と磁場(B)の波  
(電磁波)

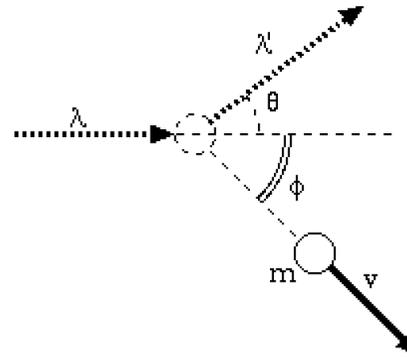


James Clerk Maxwell

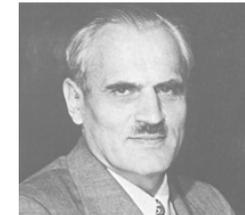
## 粒子説

コンプトン散乱

→ 光の粒子(光子)によって説明できる



$$\lambda < \lambda'$$

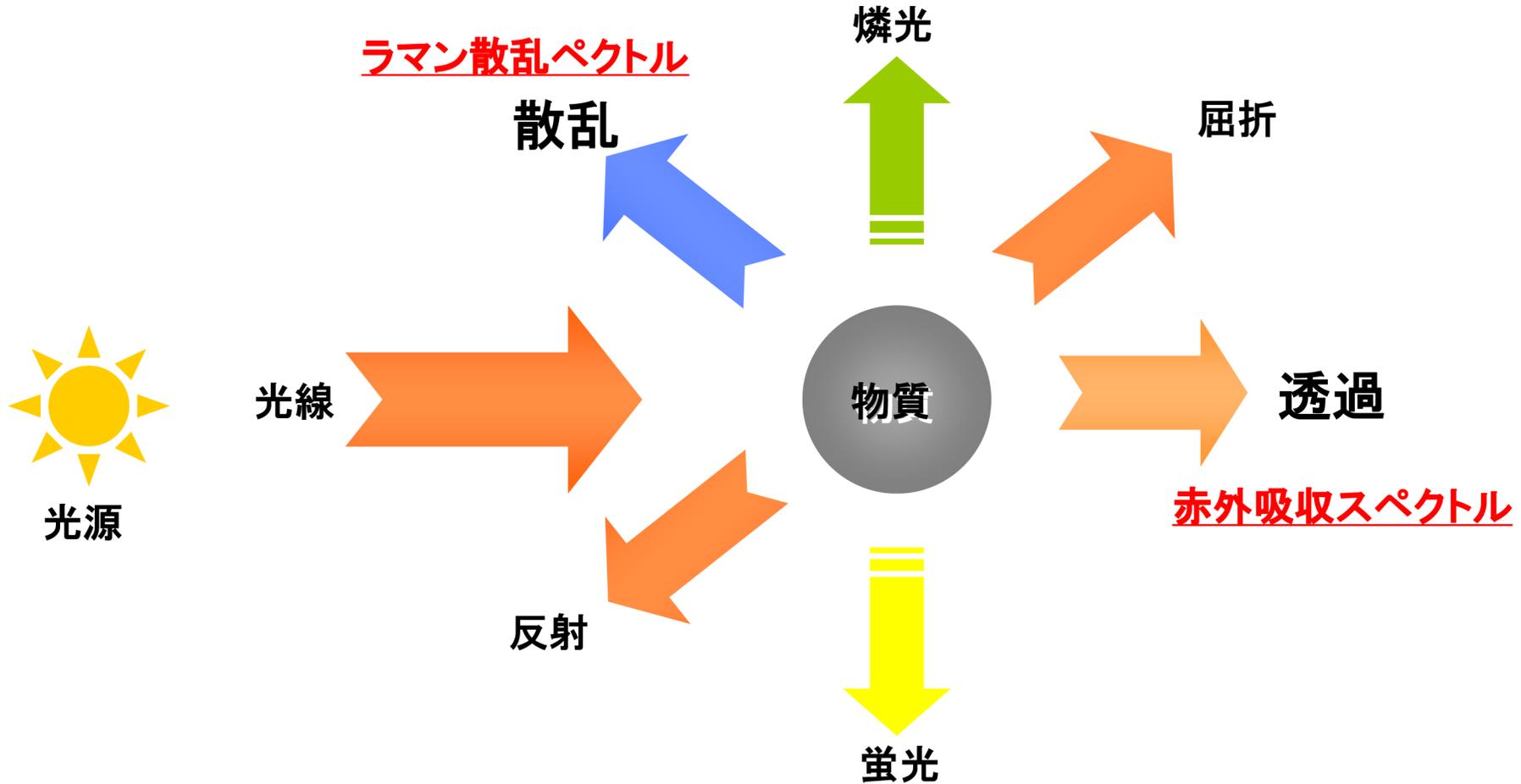


Arthur Holly Compton

現在では波動性と粒子性をあわせもつと考えられている。

# 光と物質の相互作用

光を物質に照射するといろんなことが起こる



## ラマン散乱の歴史



チャンドラセカール・ベンカータ・ラマン

インドのカルカッタ大学の教授

地中海の航海中に海の青い色に関心を持ち、光の散乱現象についての研究を始める

水の散乱光に入射光とは異なる波長の散乱光が存在することを見出す。

さらに1928年、ベンゼンの散乱光を写真乾板に記録することに成功した。これが世界最初のRamanスペクトルである。

この発見に対して1930年にノーベル賞が与えられた。

アジアで最初の自然科学系ノーベル賞受賞者

東京理科大学 矢島博文研究HPより

[http://www.rs.kagu.tus.ac.jp/yajilab/siryou\\_IRandRaman.pdf](http://www.rs.kagu.tus.ac.jp/yajilab/siryou_IRandRaman.pdf)









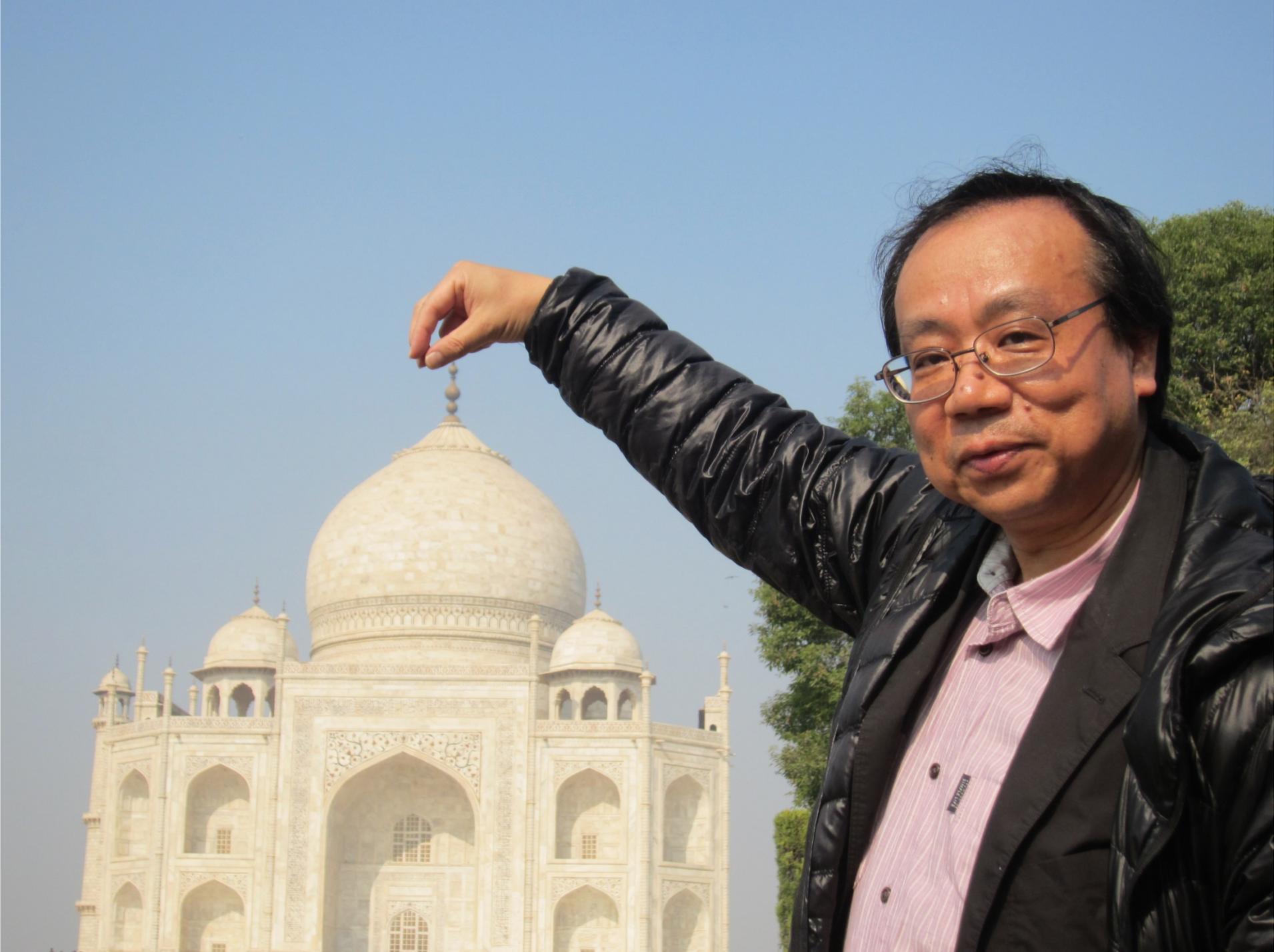
*India-Japan Workshop on  
"Biomolecular Electronics & Or  
Nanotechnology for Environment Pr*

**IBME 2013**

*14th - 15th December 2013  
Delhi Technological University, Delhi*

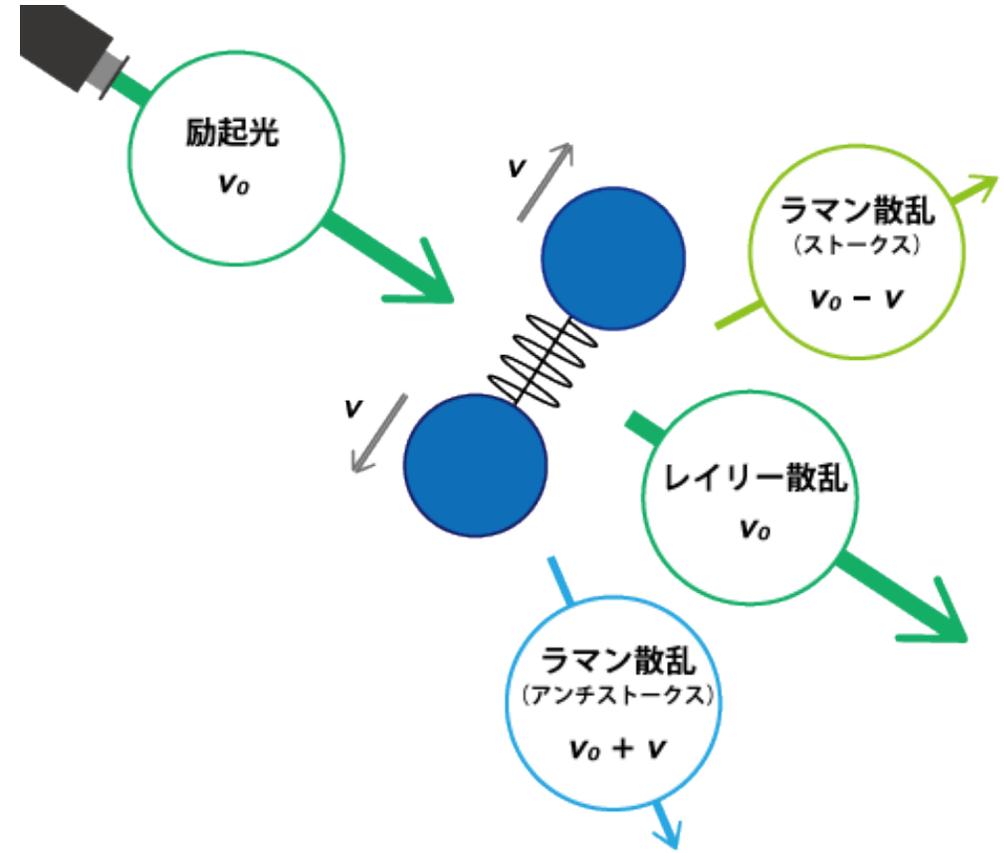






## ラマン分光法

物質に光を照射すると、光と物質の相互作用により反射、屈折、吸収などのほかに散乱と呼ばれる現象が起こります。散乱光のなかには入射光と同じ波長の光が散乱されるレイリー散乱(弾性散乱)と、分子振動によって入射光とは異なる波長に散乱されるラマン散乱(非弾性散乱)があります。ラマン散乱光はレイリー散乱よりも $10^{-6}$ 倍ほど微弱な光です。その微弱な光を分光し、得られたラマンスペクトルより、分子レベルの構造を解析する手法がラマン分光法です。



# レイリー散乱



レイリー (1842-1919)  
イギリス物理学者

光の波長よりも十分小さい粒子による散乱。

散乱係数

$$\alpha_s = \frac{NW_s}{I} = \frac{8\pi^3 N \alpha^2}{3\lambda^4 \epsilon_0^2} = \frac{32\pi^3}{3\lambda^4 N} (n-1)^2$$

屈折率  
波長  
散乱原子密度

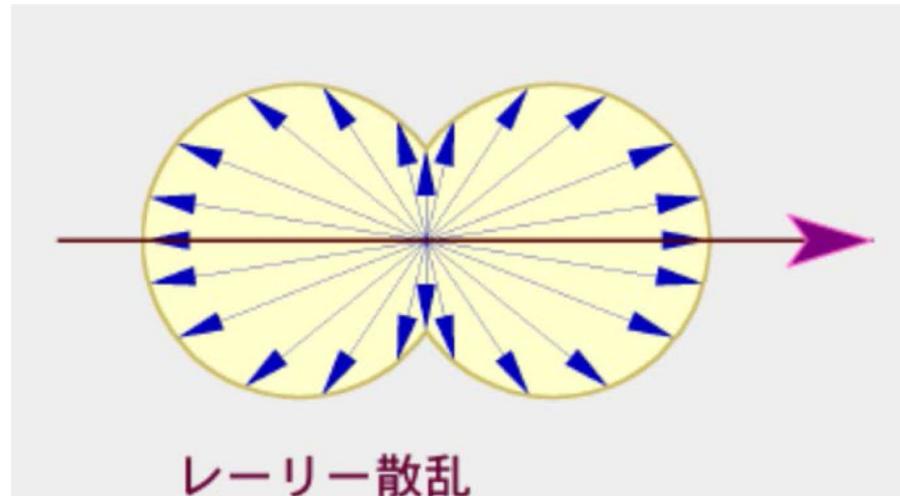


$$\alpha_s \propto \frac{1}{\lambda^4}$$

散乱係数は波長の4乗に反比例する。

光の散乱強度

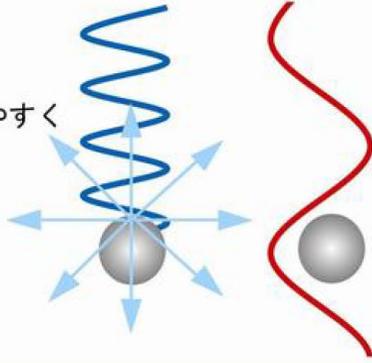
$$I(\theta) = \frac{I_0 \pi^4 d^6}{8R^2 \lambda^4} \left( \frac{m^2 - 1}{m^2 + 1} \right)^2 (1 + \cos^2 \theta)$$



(光と光の記録 安藤幸司 (2003) より)

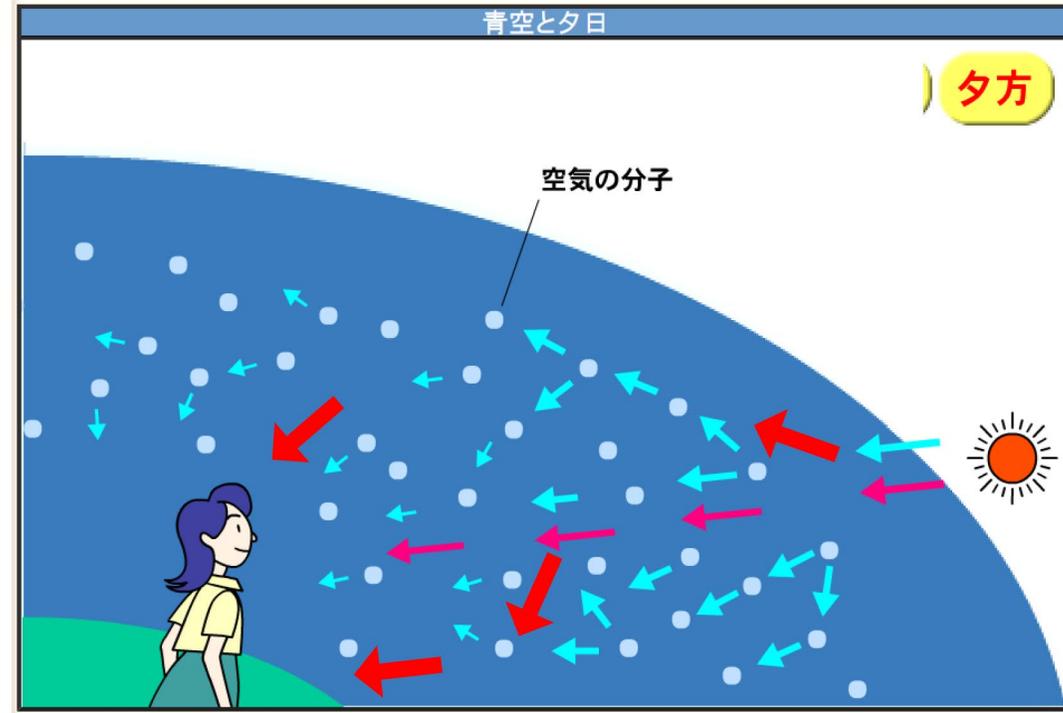
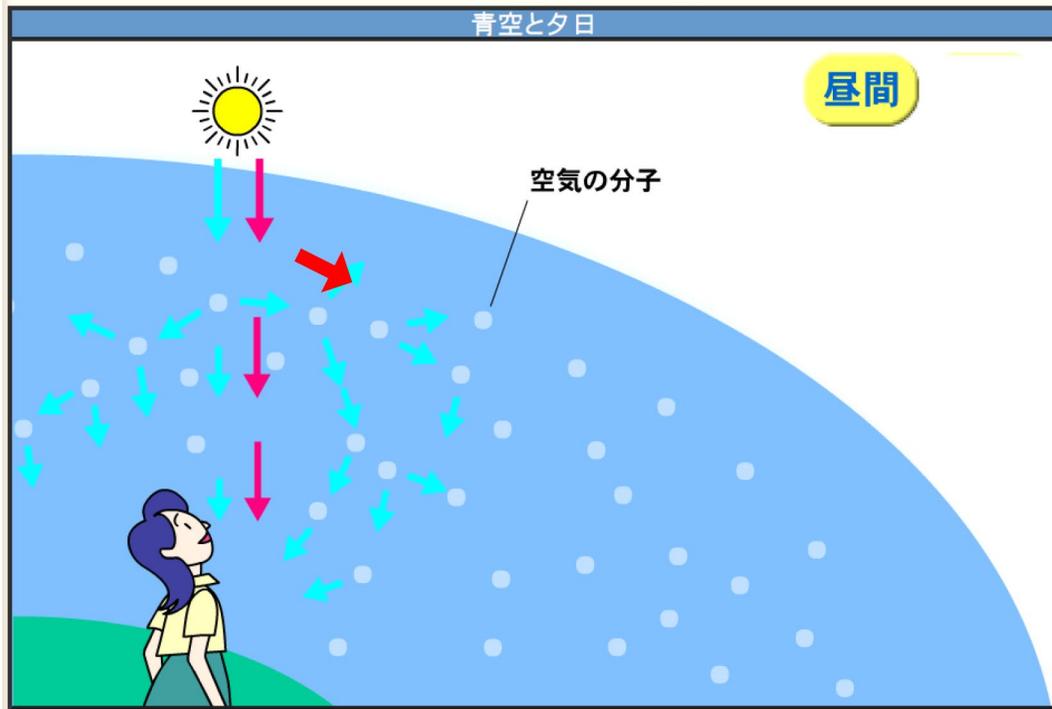
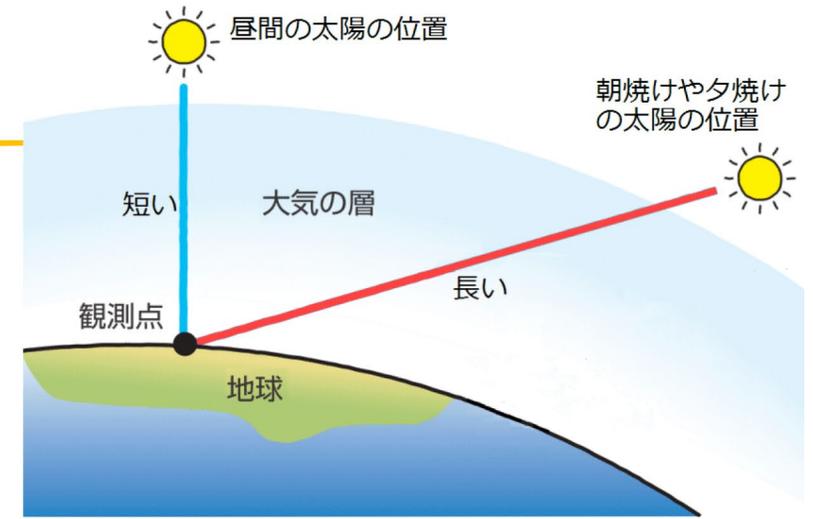
# レイリー散乱(空の色)

波長が短い光は  
粒子にぶつかりやすく  
散乱も強い



波長が長い光は  
粒子にぶつかりづらく  
また散乱が弱い

(東京ガスHPより)



(国立科学博物館HPより)

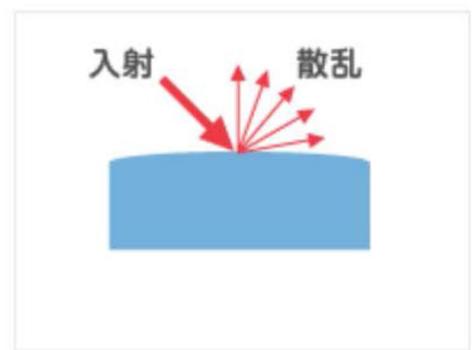
# 光



(a) 吸収

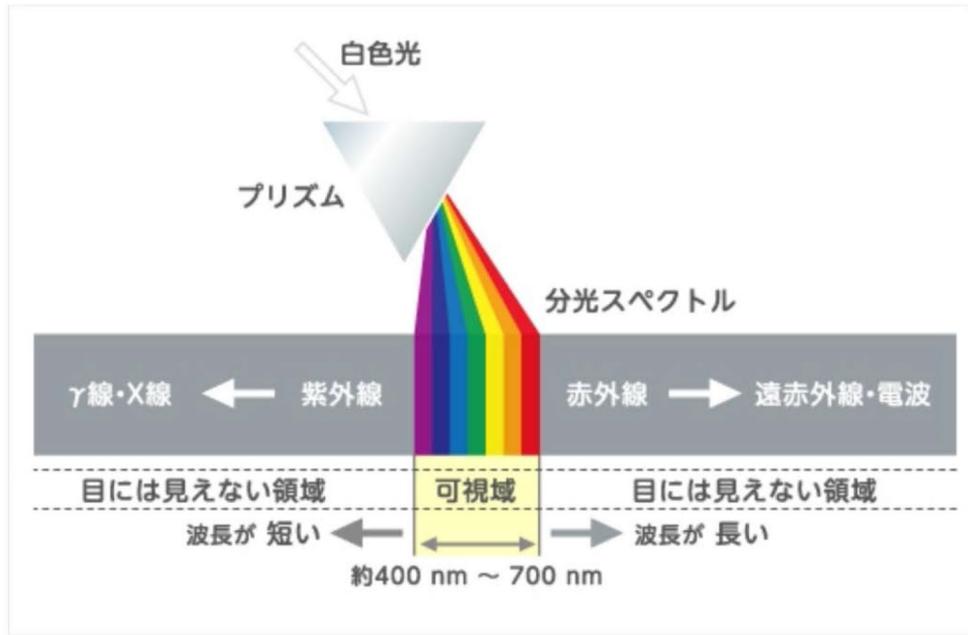


(b) 反射、透過



(c) 散乱

(Photonてらす (浜松ホトニクス株式会社) より)



光のスペクトル

## 光の散乱

**弾性散乱**  
入射光の波長 = 散乱光の波長

**レイリー散乱**  
粒子サイズ < 波長

**ミー散乱**  
粒子サイズ > 波長 例: 血球

**非弾性散乱**  
入射光の波長 ≠ 散乱光の波長

**ブリルアン散乱** 音波が介在

**ラマン散乱** 光子振動が介在

(東京大学 石川顕一より)

# ラマン散乱とラマンスペクトル



ラマン散乱：

インドの物理学者C. V. Raman が1928年に発見

ラマンスペクトル：

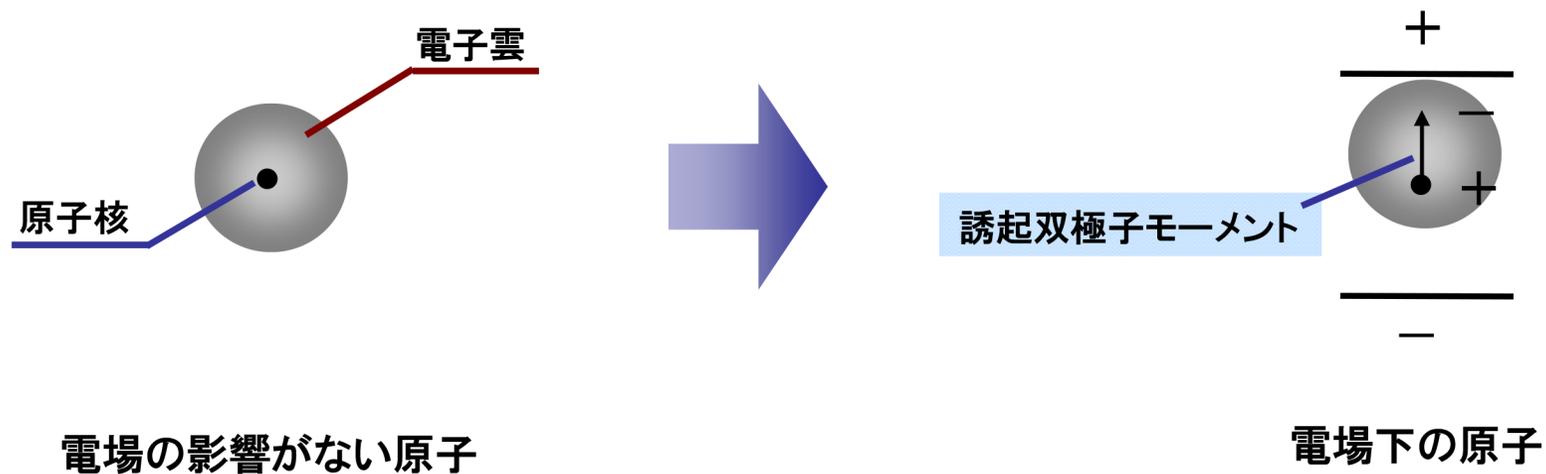
ラマン散乱光のスペクトル



写真：Wikipediaより引用

[http://de.wikipedia.org/wiki/C.\\_V.\\_Raman](http://de.wikipedia.org/wiki/C._V._Raman)

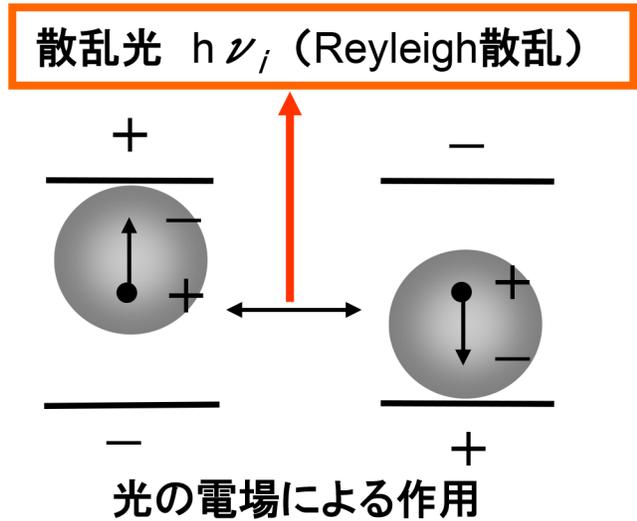
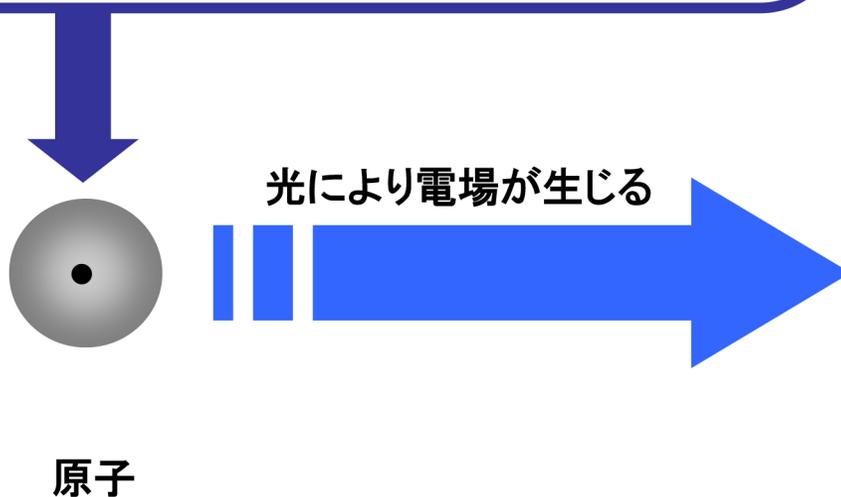
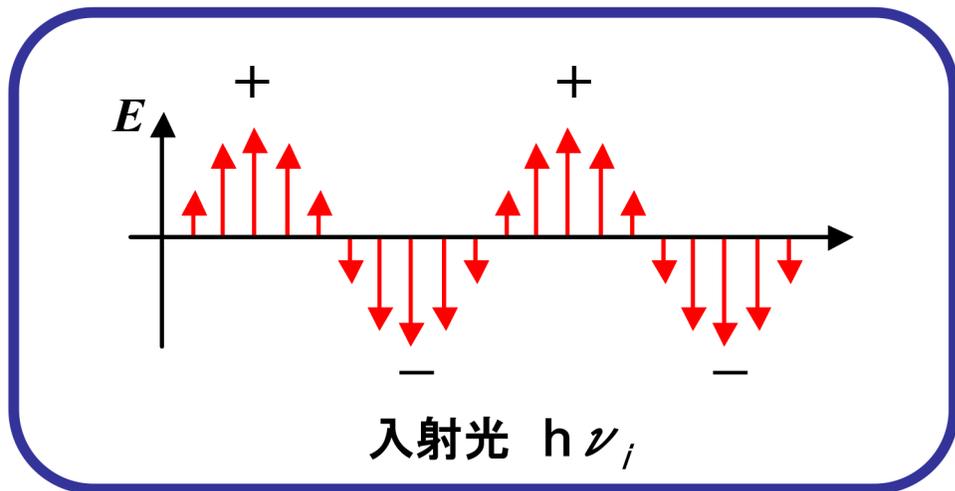
# 光の散乱



電場下では電子雲が歪み、双極子モーメントが生じる

→ 誘起双極子モーメント

# 光の散乱



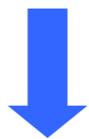
入射光の振動する電場により誘起双極子モーメントが振動することで、入射光と同じ振動数の散乱光が放出される。

# ラマン散乱の原理

実際の原子では核が振動している(振動数  $\nu \ll \nu_i$ )



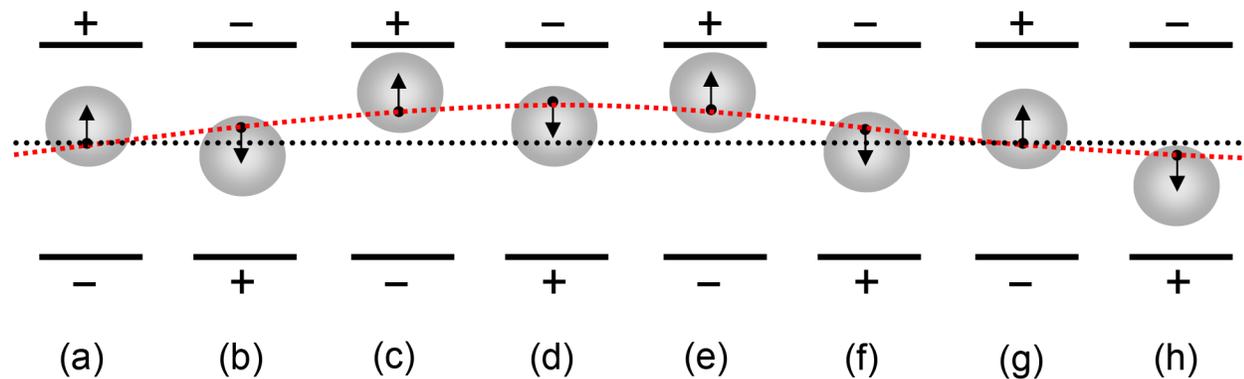
光の電場の振動( $\nu_i$ )と原子核の振動( $\nu$ )で“うなり”が生じる



双極子モーメントの振動に  $(\nu_i + \nu)$  と  $(\nu_i - \nu)$  の成分が生まれる



Raman散乱



# ストークス線とアンチストークス線

ストークス線の強度  $\propto v=0$  の分子数

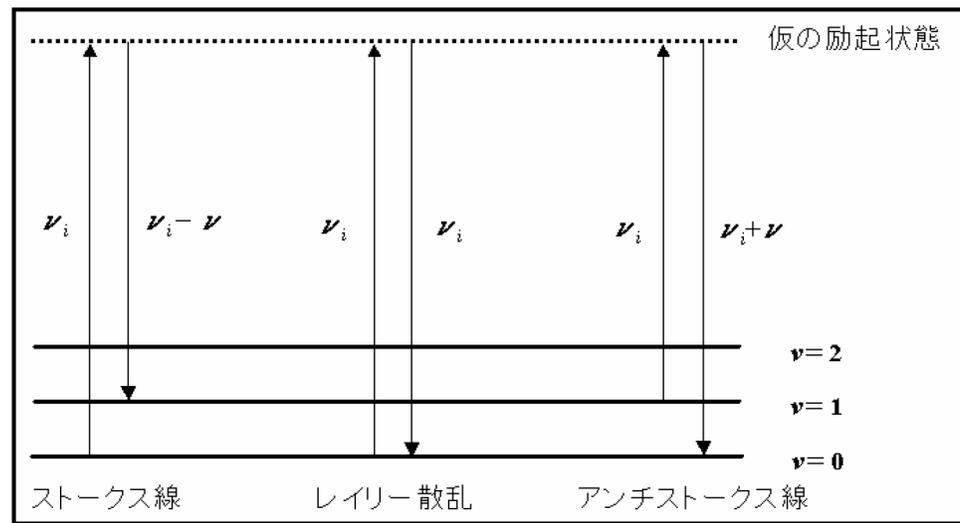
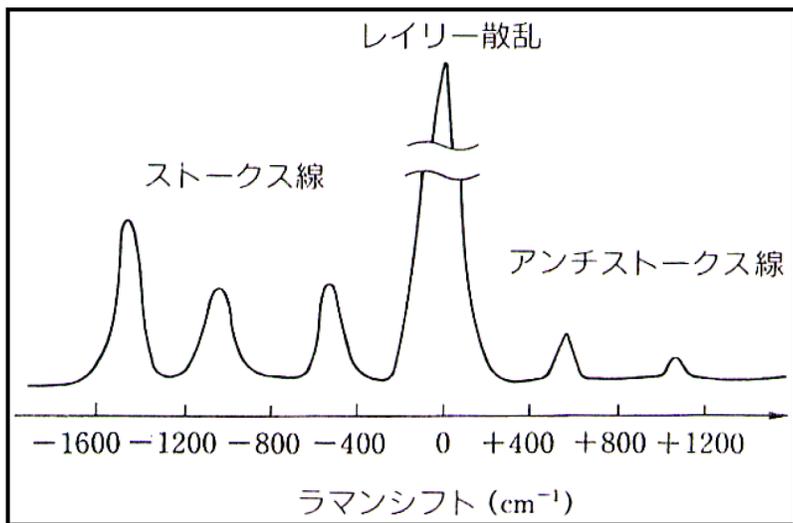
アンチストークス線の強度  $\propto v=1$  の分子数



ボルツマン分布則より、 $v=1$  の分子の数は  $v=0$  の分子の数よりも少ない



**アンチストークス線の強度 < ストークス線の強度**



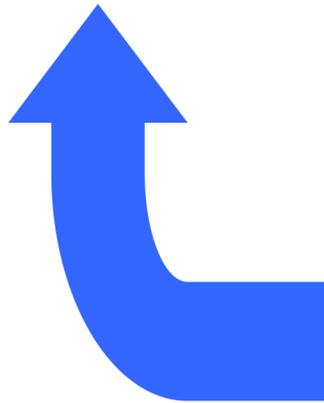
## ラマン散乱の原理

$$\mu = \underline{\alpha} E$$

$\mu$ : 誘起双極子モーメント

$\alpha$ : 分極率

$E$ : 光の電場



$$E = E_0 \cos 2\pi\nu_i t$$

$$\alpha = \alpha_0 + \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q$$

$$Q = Q^0 \cos 2\pi\nu t$$

$\alpha_0$ : 平衡位置での分極率

$E_0$ : 電場の振幅

$Q$ : 原子核の変位

$Q^0$ : 原子核の最大変位

## ラマン散乱の原理

$$\begin{aligned}\mu &= \left[ \alpha_0 + \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q \right] E_0 \cos 2\pi\nu_i t \\ &= \alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_i t + \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 E_0 \cos 2\pi\nu t \cdot \cos 2\pi\nu_i t \\ &= \underbrace{\alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_i t}_{\text{レイリー散乱}} + \frac{1}{2} \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q^0 E_0 \left[ \underbrace{\cos 2\pi(\nu_i + \nu)t}_{\text{ラマン散乱}} + \underbrace{\cos 2\pi(\nu_i - \nu)t}_{\text{ラマン散乱}} \right]\end{aligned}$$

### 選択則

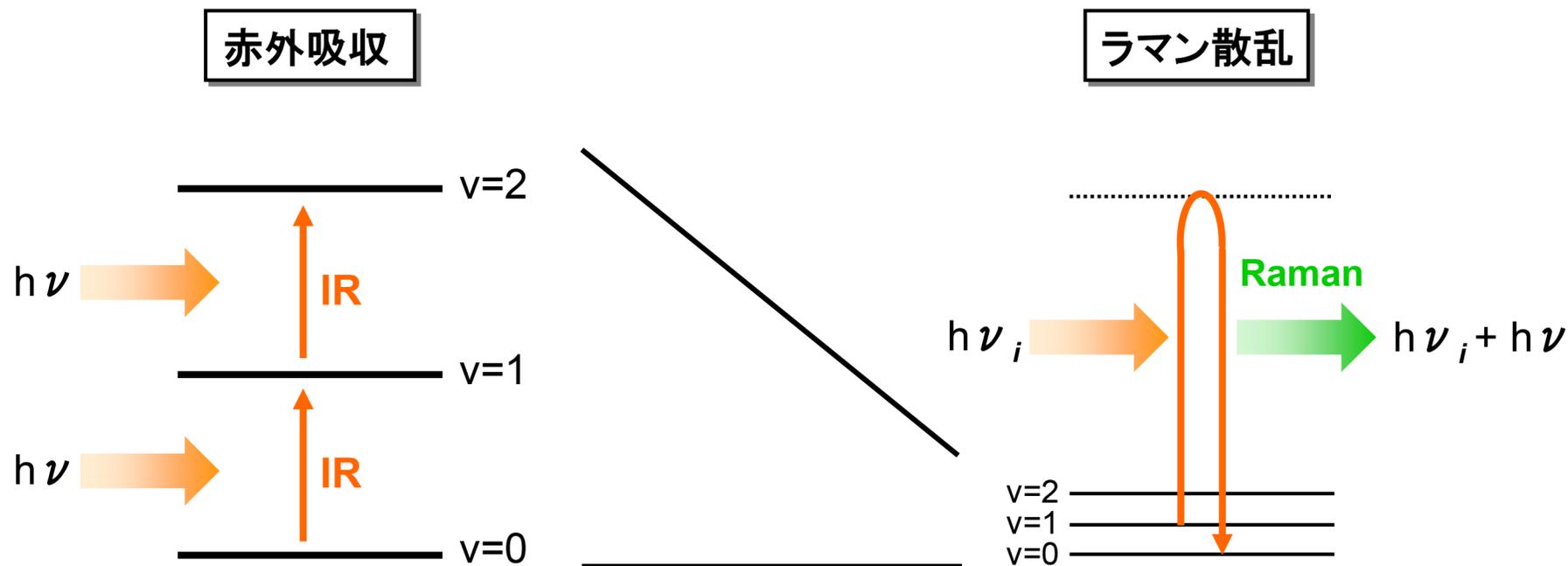
$\left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 \neq 0$  の場合のみラマン散乱が起こる

# ラマン活性と赤外活性

	対称伸縮振動 (symmetric stretching mode)	逆対称伸縮振動 (antisymmetric stretching mode)	変角振動 (bending mode)
	$O=C=O$ $O=C=O$ $O=C=O$	$O=C=O$ $O=C=O$ $O=C=O$	$O=C=O$ $O=C=O$ $O=C=O$
振動変位による分極率楕円体の変化			
分極率テンソル成分の微分	 $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q}\right)_0 \neq 0$	 $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q}\right)_0 = 0$	 $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q}\right)_0 = 0$
ラマン	活性 ( $\nu_1=1340\text{cm}^{-1}$ )	不活性	不活性
振動変位による分子双極子モーメントの変化	$O=C=O$ $O=C=O$ $O=C=O$ - + - - + - - + -	$O=C=O$ $O=C=O$ $O=C=O$ ← + → - ← + → - ← + →	$O=C=O$ $O=C=O$ $O=C=O$ ↑ - ↓ + ↑ - ↓ + ↑ - ↓
双極子モーメントの微分	 $\left(\frac{\partial \mu}{\partial Q}\right)_0 = 0$	 $\left(\frac{\partial \mu}{\partial Q}\right)_0 \neq 0$	 $\left(\frac{\partial \mu}{\partial Q}\right)_0 \neq 0$
赤外	不活性	活性 $\nu_3=2349\text{cm}^{-1}$	活性 $\nu_2=667\text{cm}^{-1}$

# ラマン散乱と赤外吸収

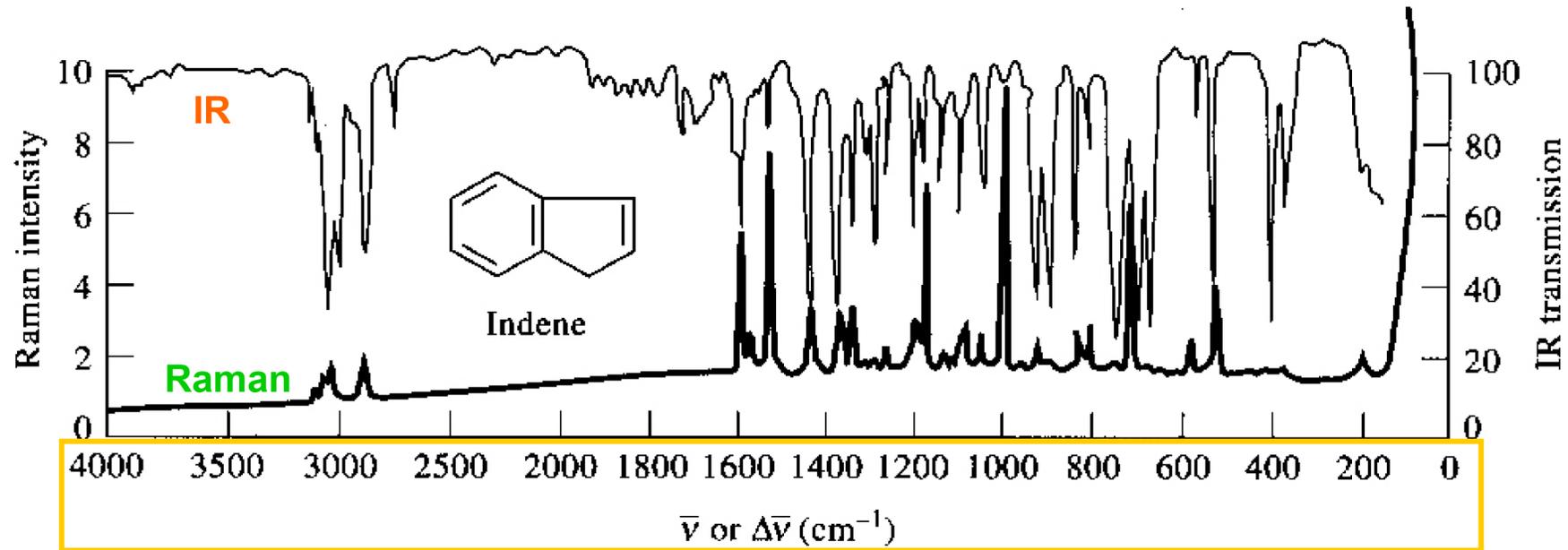
分子の振動状態に関する知見を得るための技術



吸収される光の振動数(or 波長)  
から分子振動の知見を得る

入射光と散乱光の振動数(or 波長)の差  
から分子振動の知見を得る

## 測定例



**IR:** 吸収された光の振動数

**ラマン:** 入射光と散乱光の振動数の差(ラマンシフト)

# ラマン散乱の測定技術

ラマン散乱分光法の短所は...

**ラマン散乱光の強度が非常に弱い！**

→ レイリー散乱に隠れてしまう  
S/Nの低下

きれいなスペクトルを得るには...

光源の強度を上げる



光源にレーザーを用いる

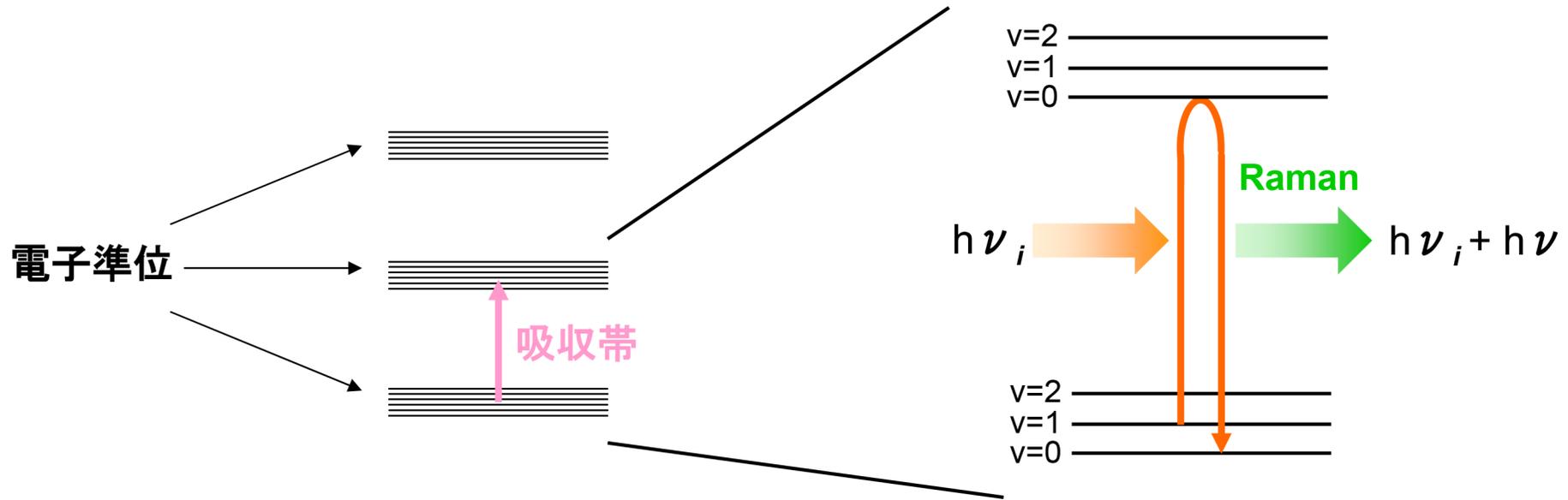
散乱強度を上げる



**共鳴ラマン分光法**

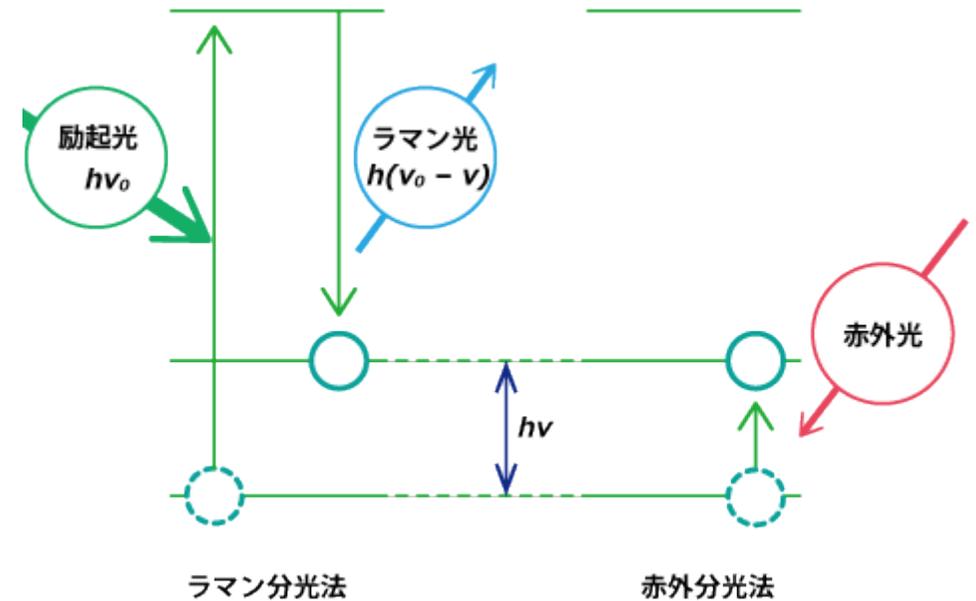
# 共鳴ラマン

吸収帯付近の波長を用いることで散乱強度が増大する

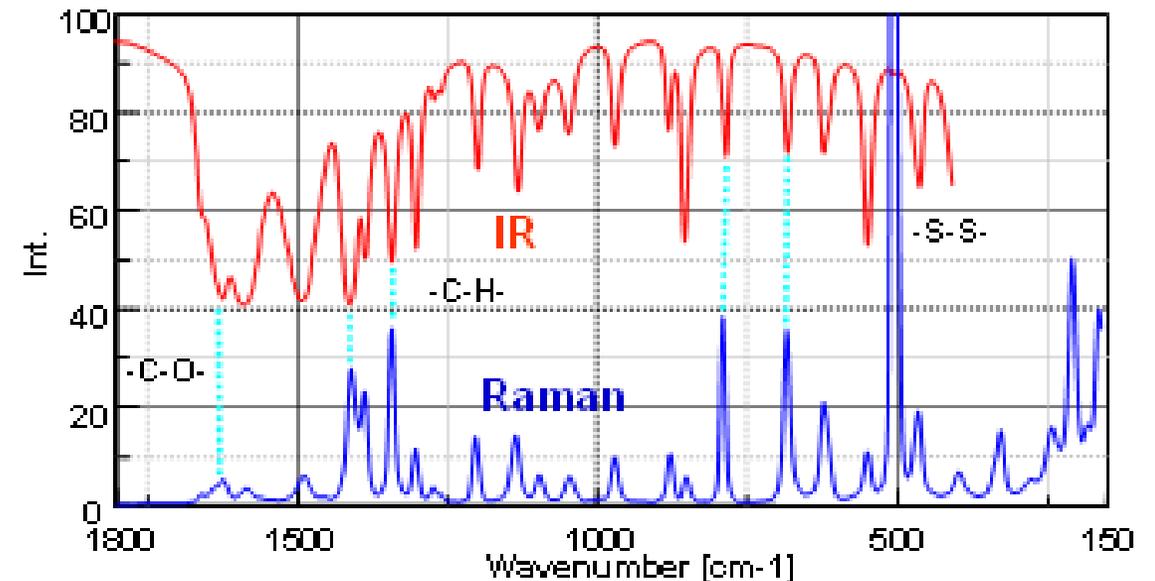


## ラマン分光法と赤外分光法の違い

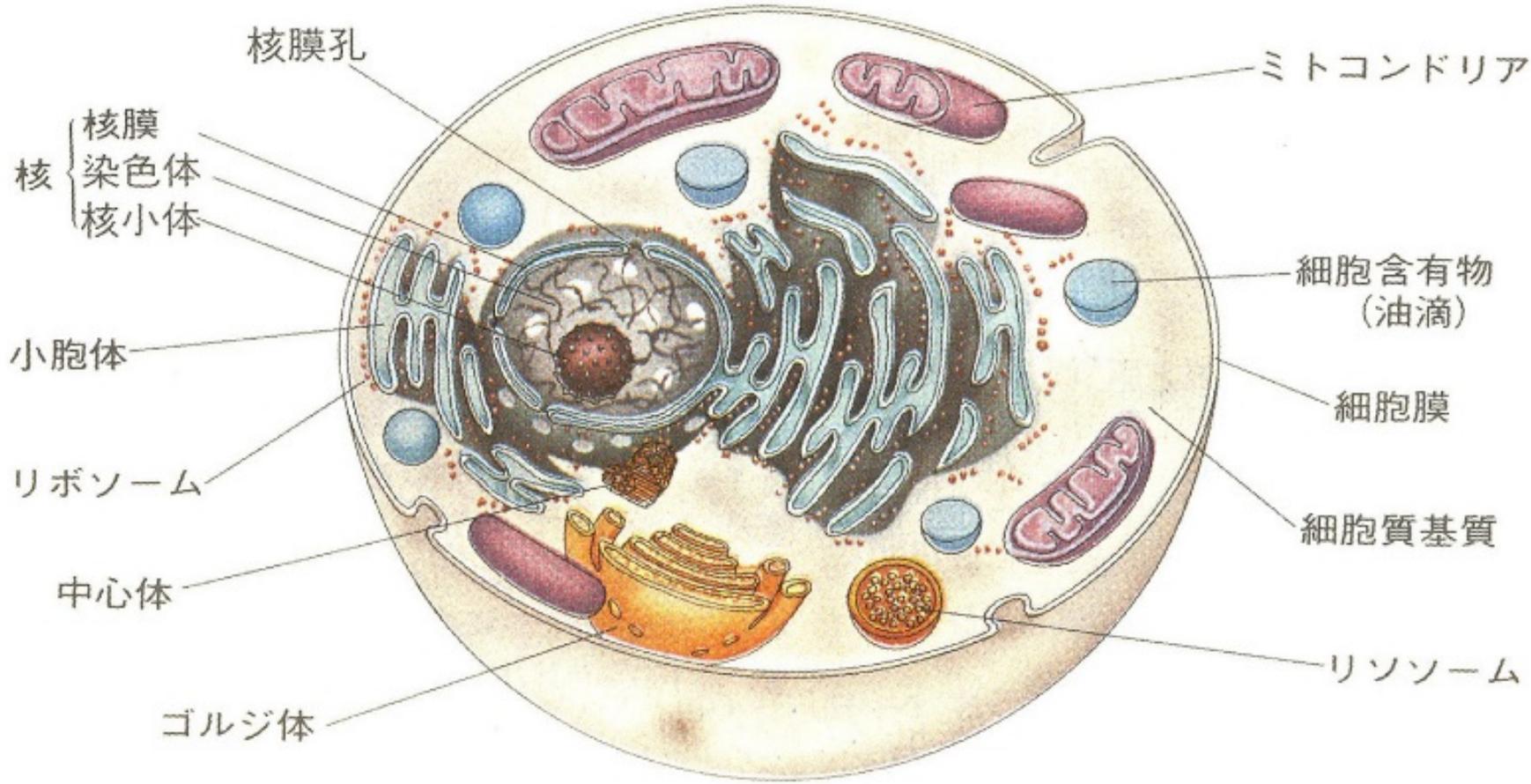
ラマン分光法以外にも、分子の振動情報より分子構造を解析する振動分光法に赤外分光法があります。赤外分光法は、分子の振動エネルギーに相当する光エネルギーの吸収、赤外吸収スペクトル(IRスペクトル)を検出する方法です(図3)。一方ラマン分光法は、入射光に対して分子の振動エネルギー( $h\nu$ )だけシフトしたラマン散乱を観測します。このため、赤外分光法とラマン分光法では同じ官能基の振動モードが同じ波数に検出されます。



L-シスチンのラマンおよびIRスペクトルを図4に示します。原理的な違いから、ラマン分光法ではS-SやC-C結合のように分子の振動によって分極率(電子雲)の体積が大きく変化する対称性のよい振動モードが強く検出されます。赤外分光法ではC=OやO-Hのように振動によって双極子モーメント(電荷の偏り)が大きい振動モードが非常に強く検出されます。双方の分析手法を併用することで詳細な分子構造を解析することが可能です。



動物細胞



# 脂質

hydrocarbon  
アルキル

# たんぱく質

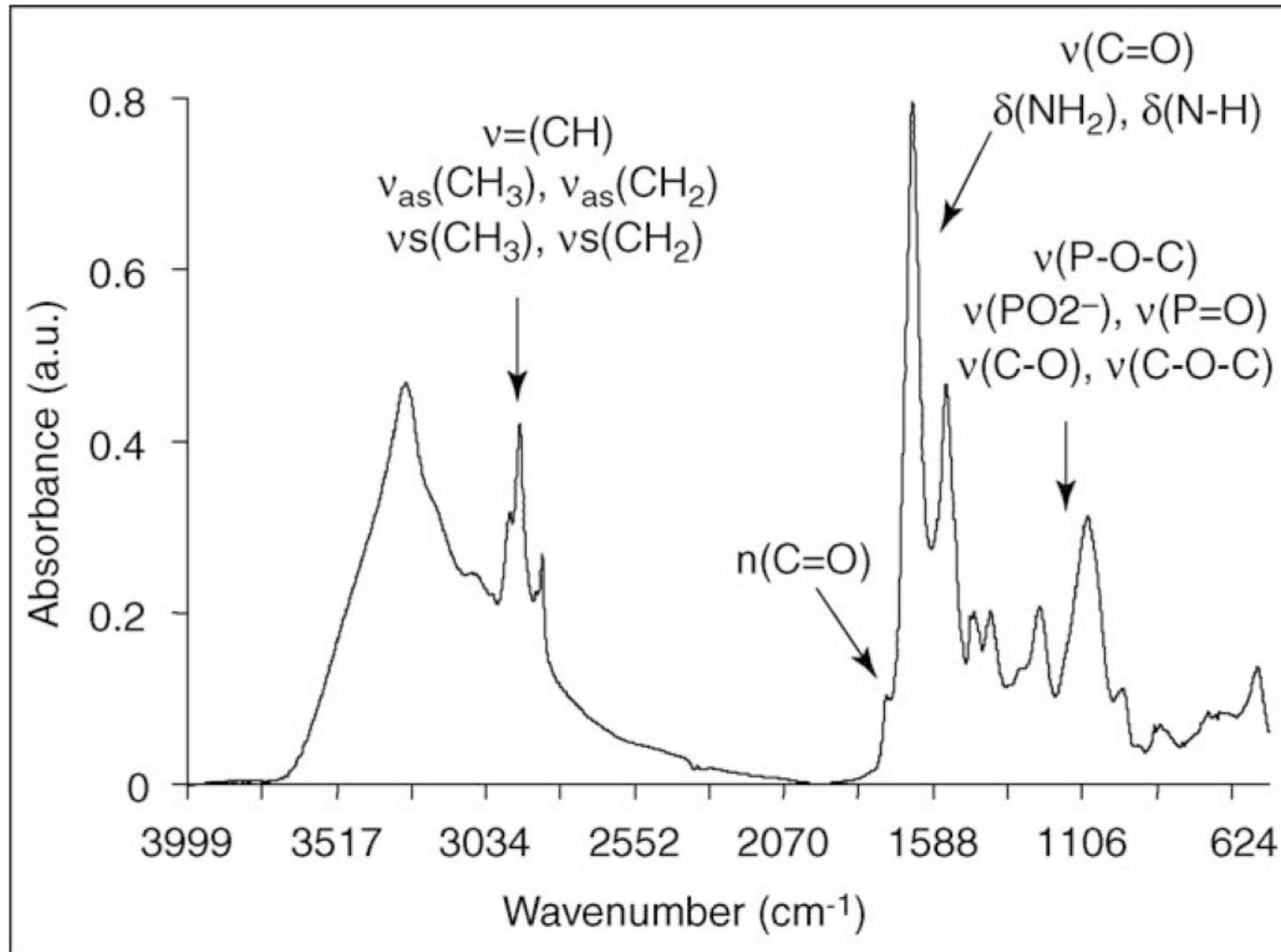
アミド

# 核酸

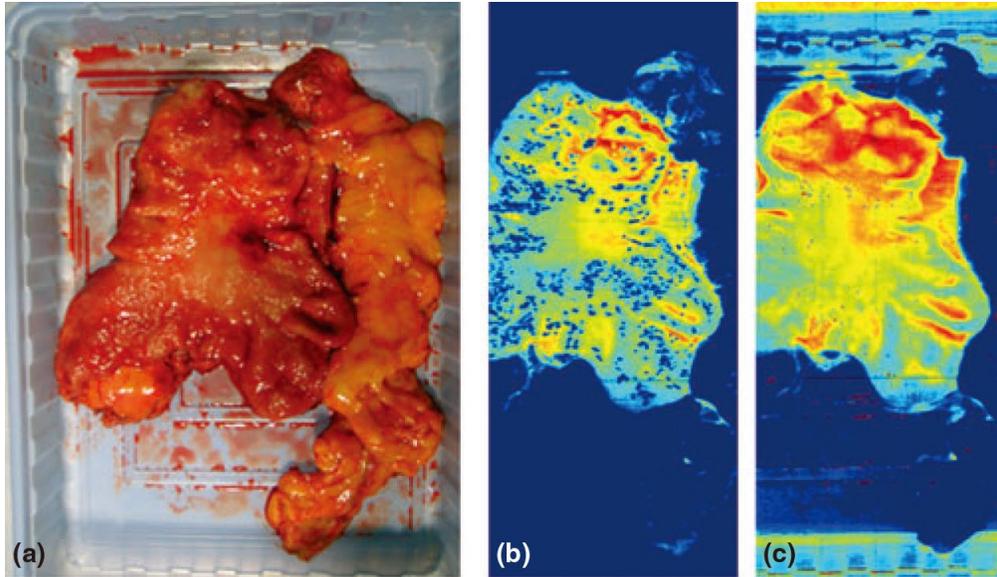
核酸塩基、リン酸エステル

# 糖鎖

carbohydrate chain  
OH



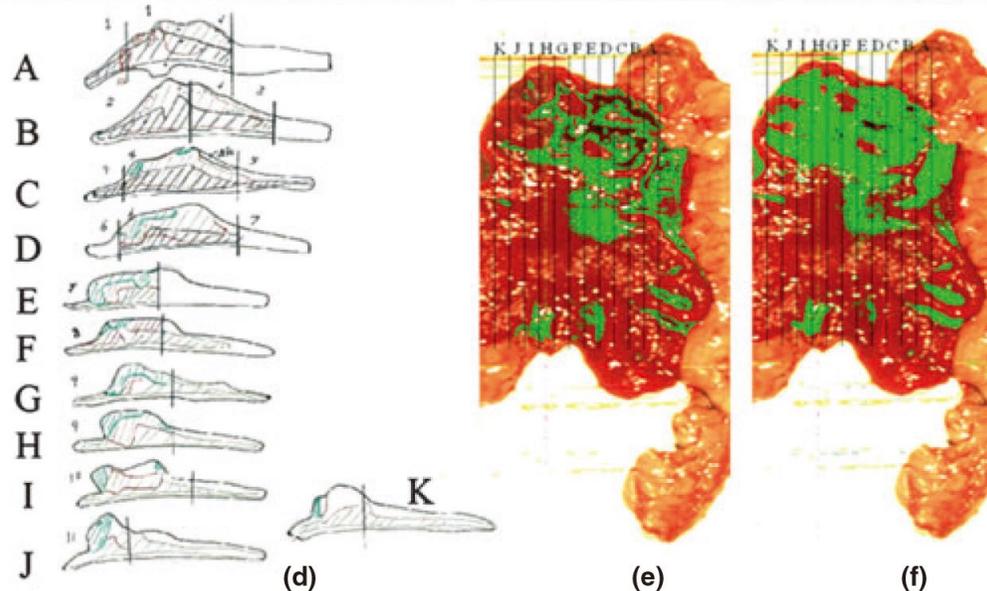
FT-IR spectrum of U87 cells (human glioblastoma) expressed as arbitrary units (a.u.). The main infrared absorptions belonging to cellular contents are the CH of fatty acyl moieties, the C=O and N–H of amides, the NH<sub>2</sub> of amines, P–O and P=O of phosphate groups and C–O–C of sugars.



## Cancer detection using infrared hyperspectral imaging

Hamed Akbari,<sup>1,4</sup> Kuniaki Uto,<sup>2</sup> Yukio Kosugi,<sup>2</sup> Kazuyuki Kojima<sup>3</sup> and Naofumi Tanaka<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Department of Radiology, Emory University, Atlanta, USA; <sup>2</sup>Department of Mechano-Micro Engineering, Tokyo Institute of Technology, Yokohama;  
<sup>3</sup>Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

Cancer Sci. 102, 852-857 (2011).



Cancer detection using the normalized cancer index (NDCI) and integral filter and comparison with pathological results. (a) the RGB image; (b) the cancer enhanced regions using integral filter in the hyperspectral image (1057–2440 nm), the tissues are shown in a blue to red spectrum and the red regions represent the tumor; (c) the cancer enhanced regions using NDCI; (d) pathological results; (e) detected tumor using integral filter (f) detected tumor using NDCI.

# Diagnosis of Periodontal Disease from Saliva Samples Using Fourier Transform Infrared Microscopy Coupled with Partial Least Squares Discriminant Analysis

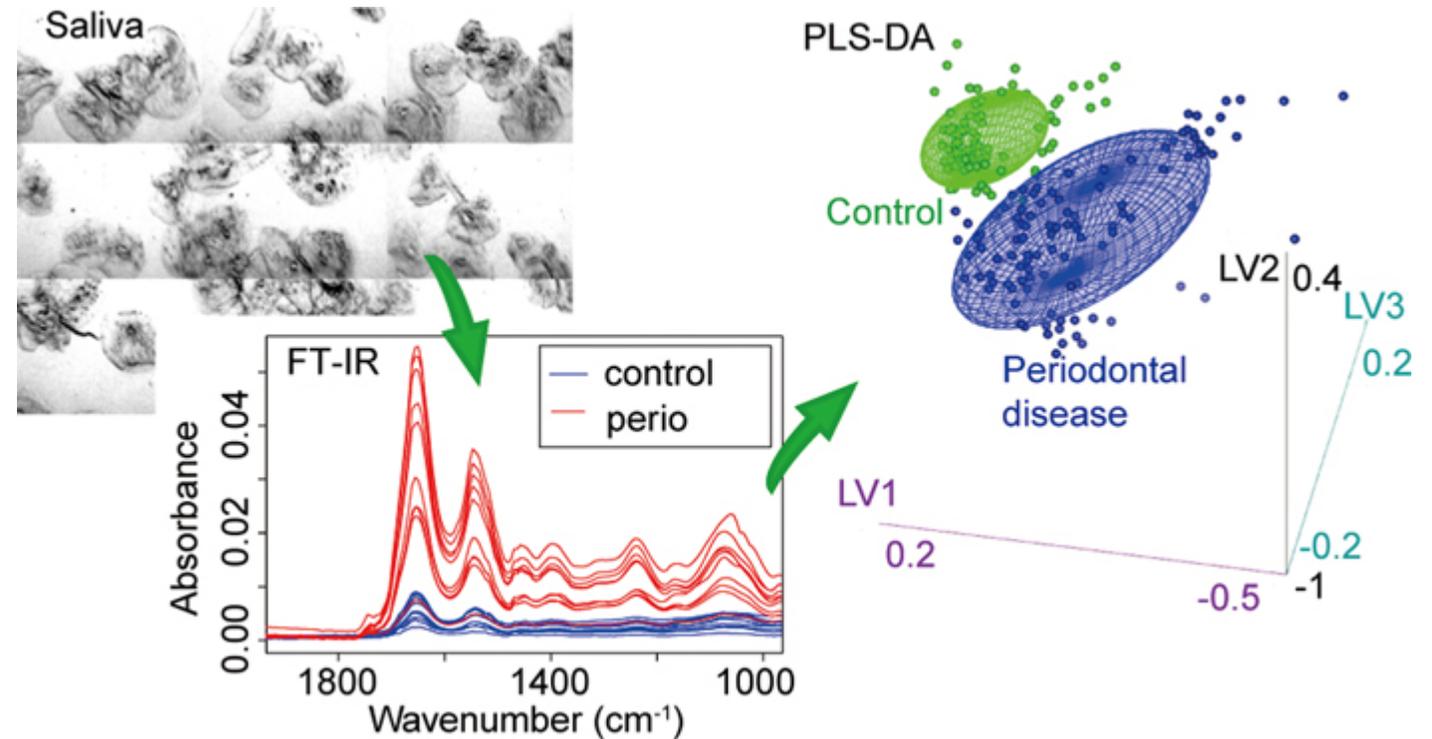
[Satoshi FUJII<sup>1\) 2\)</sup>](#), [Shinobu SATO<sup>2\) 3\)</sup>](#), [Keisuke FUKUDA<sup>2\)</sup>](#), [Toshinori OKINAGA<sup>4\)</sup>](#), [Wataru ARIYOSHI<sup>4\)</sup>](#), [Michihiko USUI<sup>5\)</sup>](#), [Keisuke NAKASHIMA<sup>5\)</sup>](#), [Tatsuji NISHIHARA<sup>4\)</sup>](#), [Shigeori TAKENAKA<sup>2\) 3\)</sup>](#)

1) Department of Bioscience and Bioinformatics, Kyushu Institute of Technology 2) Research Center for Bio-microsensing Technology, Kyushu Institute of Technology 3) Department of Applied Chemistry, Kyushu Institute of Technology 4) Division of Periodontology, Department of Oral Function, Kyushu Dental University, Department of Oral Function 5) Division of Infections and Molecular Biology, Department of Health Promotion, Kyushu Dental University

Released on J-STAGE February 10, 2016

Keywords: [Periodontal disease](#), [Fourier transform infrared \(FT-IR\) microscopy](#), [partial least squares \(PLS\) discriminant analysis](#), [leave-one-out cross-validation \(LOOCV\)](#)

Diagnosis of periodontal disease by Fourier transform infrared (FT-IR) microscopic technique was achieved for saliva samples. Twenty-two saliva samples, collected from 10 patients with periodontal disease and 12 normal volunteers, were pre-processed and analyzed by FT-IR microscopy. We found that the periodontal samples showed a larger raw IR spectrum than the control samples. In addition, the shape of the second derivative spectrum was clearly different between the periodontal and control samples. Furthermore, the amount of saliva content and the mixture ratio were different between the two samples. Partial least squares discriminant analysis was used for the discrimination of periodontal samples based on the second derivative spectrum. The leave-one-out cross-validation discrimination accuracy was 94.3%. Thus, these results show that periodontal disease may be diagnosed by analyzing saliva samples with FT-IR microscopy.



## まとめ

1. 赤外吸収は分子の振動を見ている。
2. 分子には特有な赤外吸収帯が存在する。
3. 赤外吸収は医療をはじめさまざまな分野へ応用されている。

# 課題レポート

以下の問に答えよ.

- (1) 朝焼けよりも夕焼けのほうが赤々としているように見える. その理由を説明せよ.
- (2) 800 nmの光を水素分子に照射したときのラマン散乱光の波長を計算せよ.
- (3) ストークスラマンと反ストークスラマンのどちらの散乱が強いのか. 説明せよ.